

Comparison of PANA RealTyper HPV Kit with AdvanSure HPV GenoBlot Assay for Human Papillomavirus Genotyping

Yi Hyeon Kim, Hae-Sun Chung, Miae Lee

Department of Laboratory Medicine, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The PANA RealTyper HPV kit (PANAGENE, Korea; PANA RealTyper) was developed to genotype human papillomavirus (HPV) and was based on multiplex real-time PCR amplification and melting curve analysis. In this study, we compared PANA RealTyper to the AdvanSure HPV GenoBlot assay (LG Life Sciences, Korea; AdvanSure assay) and attempted to evaluate the performance of PANA RealTyper.

Methods: A total of 60 cervical specimens were collected from women undergoing routine cervical cancer screening. The AdvanSure assay and PANA RealTyper kit identified the same 20 high-risk genotypes. However, the AdvanSure assay identified 15 low-risk genotypes, while the PANA RealTyper kit identified only 2 but detected 18 low-risk genotypes.

Results: Among the total 60 specimens, 54 high-risk genotypes (40 specimens) and 20 low-risk genotypes (18 specimens) were detected. The agreement rates of the assays ranged from 94.4 to 100% for high-risk

genotypes. Among 9 genotypes that were positive in the PANA RealTyper kit but negative in the AdvanSure assay, 7 were confirmed as true positive (HPV genotypes 16 (n=1), 39 (n=1), 52 (n=1), 58 (n=2), 68 (n=2)). Among 4 genotypes that were negative in the PANA RealTyper kit but positive in the AdvanSure assay, 3 were confirmed as HPV genotype 59. Among the 19 low-risk genotypes positive in the AdvanSure assay, there were 2 cases of HPV 6 and 1 case of HPV 11. In comparison, only 1 positive case of HPV 6 was determined by the PANA RealTyper kit.

Conclusion: The PANA RealTyper kit was comparable with the AdvanSure assay. The PANA RealTyper kit would be useful and suitable for HPV genotyping in the clinical laboratory. (*Ann Clin Microbiol* 2018;21:86-91)

Key Words: Genotype, Human papillomavirus, Multiplex real-time polymerase chain reaction

INTRODUCTION

고위험군 인유두종바이러스(human papillomavirus, HPV)의 감염과 자궁경부암 발생이 연관이 있다는 사실은 잘 알려져 있다. 이에 정기검진을 통해 암의 초기 단계나 암이 진행될 것으로 예상되는 부위를 검출하여 조기예방 및 치료를 통해 암으로의 진행을 막는 것이 효과적이다. 세포학적 검진으로 암의 조기진단을 일차적으로 하게 되는데 이 방법은 정확한 진단이 어려운 경우가 있다. 이 때 분자유전학적으로 고위험군의 HPV 감염을 구별해낼 수 있는 방법은 세포학적 진단기술의 한계를 보완해줄 수 있다[1,2].

세포학적 이상이 있는 환자군에서 흔하게 발견되는 HPV 유전자형이 존재하고 그에 해당하는 유전자형으로는 16, 18형 등이 있다[3,4]. 자궁경부암 백신이 개발되어 왔고 이러한 백신들

은 질병에 걸린 환자군이 흔히 가지고 있거나 더 심각한 병변의 진행과 연관성이 더 큰 유전자형을 대상으로 완성되었다. 고위험군 유전자형 HPV를 대상으로 한 백신의 효과에 대해서 많은 연구가 진행되었고 질환의 진행을 막는 효능이 입증되었다[5]. 질환의 발병을 효과적으로 예방할 수 있는 수단들이 개발됨에 따라 고위험군 HPV의 감염을 진단하기 위한 필요성이 극대화되었다. 고위험군 HPV의 감염을 검출하기 위한 분자적 기술들이 가진 이점과 검출능에 대한 연구가 보고되어 왔고 다양한 종류의 분자적 기법에 대해서 연구되어왔다. 그 중에서도 real-time PCR 방법은 고위험군 HPV의 검출에 있어서 효과적으로 알려져 있다[6].

최근에 소개된 PANA RealTyper HPV kit (PANAGENE, Daejeon, Korea; PANA RealTyper)는 multiplex real-time PCR 방법과 melting curve 분석을 이용하여 16형과 18형을 포함한

Received 2 May, 2018, Revised 1 October, 2018, Accepted 4 October, 2018

Correspondence: Hae-Sun Chung, Department of Laboratory Medicine, Ewha Womans University College of Medicine, 1071 Anyangcheon-ro, Yangcheon-gu, Seoul 07985, Korea. (Tel) 82-2-2650-5043, (Fax) 82-2-2650-5091, (E-mail) sunny0521.chung@ewha.ac.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

20종의 고위험군 HPV의 유전자형을 감별할 수 있다. 본 연구에서는 본원에서 기존에 사용하고 있었던 LG AdvanSure HPV GenoBlot assay (LG Life Sciences, Seoul, Korea; AdvanSure assay)와 PANA RealTyper를 비교하여 고위험군 HPV 진단에서의 성능을 평가하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 검체 수집

2016년 6월부터 2016년 11월까지 자궁경부암 검진을 받는 환자에서 채취하여 AdvanSure assay로 HPV 유전자형 검사를 시행한 후 남은 잔여검체를 수집하였다. 가능한 한 다양한 HPV 유전자형을 평가하기 위해 검체 수집기간 동안 AdvanSure assay에서 검출되는 모든 HPV 양성(고위험군 또는 저위험군) 검체를 선택하여 50개의 검체를 수집하였다. HPV 음성 검체는 임의로 10개를 선택하였다. 양이 부족한 검체는 연구대상에서 제외하였다. 검체 채취 시 멸균된 speculum을 이용하여 cytobrush로 자궁 경부를 문질러 세포를 채취하고 cervical sampler solution (Qiagen, Gaithersburg, MD, USA)에 넣어서 처리하였다. 처리된 검체는 -70°C 에서 보관하였다.

2. DNA 추출

PANA RealTyper와 AdvanSure assay 모두 TANBead Optipure viral auto plate를 이용한 TANBead smart lab assist-32 (Taiwan Advanced Nanotech, Taoyuan city, Taiwan)를 이용해 DNA를 추출하였다.

3. AdvanSure assay

HPV L1부위를 대상으로 one tube nested multiplex asymmetric PCR을 실시하고, PCR 증폭산물과 membrane에 고정된 각 종 특이적인 oligonucleotide probe를 교잡 반응시킴으로써 HPV의 유전자형을 검출하였다. AdvanSure Genoline station을 이용하여 교잡부터 판독까지 자동화되어 진행되었다. 20개의 고위험군(16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68a/68b, 69, 70, 73, 82)과 15개의 저위험군(6, 11, 32, 34, 40, 42, 43, 44, 54, 57, 61, 62, 81, 83), 총 35종의 HPV 유전자형의 검출 및 구별이 가능하였다.

4. PANA RealTyper

Peptide nucleic acid (PNA) 형광 probe를 이용한 multiplex real-time PCR 방법을 통하여 PCR 산물을 생성한 뒤 melting curve 분석으로 T_m 값을 측정하여 HPV의 유전자형을 구별하였다. 20종의 고위험군(16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 73, 82) 및 2종(6,11)의 유전자형을 검출 및 구별하였고 저위험군 18종(30, 32, 34, 40, 42, 43, 44, 54,

55, 61, 62, 67, 74, 81, 83, 84, 87, 90)의 유전자형을 검출하였다.

5. 염기순서분석

두 검사법 간 일치하지 않은 경우 염기순서분석으로 유전자형을 확인하였다. HPV L1 부위에 대한 두 쌍의 시발체를 사용하여 nested PCR을 실시하였다(LG life Science, Seoul, Korea). 1차 PCR은 MY09/MY11부위를 대상으로 한 시발체(5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3'/5'-GCMCAGGGWCA TAAAYAATGG-3')로 시행하였고 증폭산물 크기는 450 bp였다. 2차 PCR은 GP5+/GP6+ 부위를 대상으로 한 시발체(5'-TTTGT TACTGTGGTAGATACTAC-3'/5'-GAAAAATAAACTGTAA ATCATATTC-3')로 시행하였고 증폭산물 크기는 150 bp였다. HS taq premix (GenetBio, Daejeon, Korea) 13 μL , 10 μM 의 시발체 2 μL , 추출된 DNA 5 μL 를 혼합하여 반응용액을 만들었고, Takara PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio Inc., Shiga, Japan)로 PCR을 시행하였다. PCR 반응조건은 95°C 에서 10분간 변성 단계를 거쳐, MY region은 95°C 에서 15초, 55°C 에서 30초, 72°C 에서 30초, GP region은 95°C 에서 15초, 48°C 에서 45초, 72°C 에서 30초로 35회 증폭 반응하였고, 72°C 에서 5분간 연장 반응하였다. 증폭된 PCR 산물은 Qiaquick PCR Purification Kit (QIAGEN, GmbH Hilden, Germany)를 사용하여 정제한 후 ABI PRISM 3730XL Analyzer (Applied Biosystems Inc., Foster city, CA, USA)로 염기순서분석을 시행하였다. DNA 염기순서는 basic local alignment search tool (BLAST)를 활용하여 분석하였다. 다수의 HPV 유전자형이 하나의 검체에서 검출된 경우 각 유전자형에 특이적인 시발체로 PCR 및 염기순서분석을 시행하였다.

6. 통계 분석

AdvanSure assay와 PANA RealTyper 두 가지 방법에 의해 검출된 유전자형을 대상으로 하여 분석하였다. 두 가지 방법에서 모두 양성으로 검출된 경우, 한 가지 방법에서만 검출된 경우, 두 방법 모두에서 검출되지 않은 경우로 나누어 분석하였고 일치율을 계산하였다. 양성 검체와 음성 검체의 일치도를 평가하기 위해 CLSI EP12-A2에 따라 positive percent agreement와 negative percent agreement, overall percent agreement를 계산하였다[7]. 두 방법이 일치하는 정도는 Kappa 계수를 이용하여 평가했으며, 각 유전자형 당 양성 검체 수가 5개 이상일 경우 분석하였다. 신뢰구간(confidence interval, CI)은 95%로 설정하였다. 통계분석은 Excel 2016 (Microsoft corporation, Redmond, WA, USA) 프로그램을 사용하였다.

RESULTS

AdvanSure assay 또는 PANA RealTyper에서 양성인 나온 경

우를 모두 포함하였을 때 총 60개 중 40개 검체에서 54개의 고위험군 유전자형이 검출되었으며 18개 검체에서 20개의 저위험군 유전자형이 검출되었다. 고위험군 또는 저위험군 유전자형 양성 검체 수는 AdvanSure assay로 50개, PANA RealTyper로 48개 검체였다. 다수의 HPV 유전자형이 하나의 검체에서 검출된 경우가 AdvanSure assay에서 13개(21.7%), PANA RealTyper에서 15개(25.0%) 있었고 그 중 두 개의 유전자형이 한 검체에서 동시에 검출된 경우가 많았다. 양성으로 검출된 검체 당 유전자형의 수는 AdvanSure assay, PANA RealTyper 각각 1.28, 1.40이었다(Table 1, 2).

HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 73, 82형에 대해 두 방법 간 일치도를 분석하였다(Table 3). 유전자형분석에서 AdvanSure assay와 PANA RealTyper는 94.4-100%의 일치율을 보여주었다. 유전자형 16, 39, 52, 53, 56, 58, 68에서 높은 일치도를 보여주었다 (Kappa >0.6).

총 54개의 고위험군 HPV 유전자형 중 AdvanSure assay는 45개 유전자형을 검출하였고 PANA RealTyper는 50개의 유전자형을 검출하였다. 고위험군에서 두 개의 방법 모두에서 양성으로 검출된 유전자형의 수는 41개(75.9%)였고 HPV 18, 26, 33, 35, 51, 56, 66, 69, 70은 두 방법 모두에서 양성으로 일치하는 결과가 나왔다. HPV 31, 45, 73에 대해서는 두 방법에서 모두 음성 결과로 일치하였다.

고위험군에서 AdvanSure assay에서만 양성으로 검출된 수는 4건(7%)이었고 그 중 3건이 HPV 59였고 1건은 HPV 68이었다. PANA RealTyper에서만 양성으로 검출된 예는 9건(16%)이었고 HPV 16 (n=1), 39 (n=1), 52 (n=1), 53 (n=1), 58 (n=2), 68 (n=2), 82 (n=1)는 PANA RealTyper에서만 양성으로 검출되었다.

염기순서분석은 두 가지 방법에서 불일치 검체 중 AdvanSure assay에서 음성이면서 PANA RealTyper에서 양성으로 나온 검체 9개를 대상으로 진행하였고, 그 중 2개 이상의 유전자형이 양성으로 나왔던 검체 1개에서 double peak으로 결과가 나와 판독할 수 없었다. 염기순서분석 결과 HPV 16 (n=1), 39 (n=1),

52 (n=1), 58 (n=2), 68 (n=2)에서 PANA RealTyper의 결과가 진양성인 것으로 판정할 수 있었다(Table 4).

저위험군에서는 주요 유전자형인 HPV 6에서 총 3건 중 2건에서 두 방법 모두에서 양성이나왔고 1건에서 PANA RealTyper에서만 양성반응이 나왔다. HPV 11은 1건에 대해 검사가 진행되었는데 두 방법 모두에서 양성 반응이 나왔다.

DISCUSSION

현재까지 120여 개의 HPV 타입이 발견되어 왔으며 알려져 있는 HPV는 유전자형 분석을 통해 5종의 속과 33종으로 분류할 수 있다. 그 중에 Alpha HPV는 가장 중요한 HPV 유형으로 알려져 있으며 여러가지 타입이 있고 몇 개의 유전자형은 감염시 암으로 발현하는 것으로 밝혀져 있다. 이러한 유전자형의 HPV는 고위험군 HPV로 분류되고 HPV 16, 18이 대표적이다. HPV 유전자형을 밝히기 위한 기술은 시대에 따라 발전되어 왔고 다양한 기술을 이용하여 검사방법이 개발되어 왔다. 현재 이용 가능한 HPV 유전자형 검사방법은 수십 가지에 이르러 있으며 각 방법의 성능에 대하여 고찰한 문헌이 발표되었다[8, 9]. 미국에 이어 한국에서 두 번째로 많은 수의 검사가 개발되고 있으며 앞으로 시장잠재력을 고려해 보았을 때 지속적으로 많은 수의 검사가 개발될 것으로 예상되고 있다. 2015년에 존재하는 검사 중 30% 정도에 대해 제한적인 평가 연구가 진행

Table 1. Identification of genotypes by AdvanSure assay and PANA RealTyper

| Results | No. (%) of samples | |
|-----------------------|--------------------|----------------|
| | AdvanSure assay | PANA RealTyper |
| Negative | 10 (16.7) | 12 (20.0) |
| Positive for any type | 50 (83.3) | 48 (80.0) |
| Single type | 37 (61.7) | 33 (55.0) |
| Multiple type | 13 (21.7) | 15 (25.0) |
| 2 | 12 (20.0) | 11 (18.3) |
| 3 | 1 (1.7) | 4 (6.7) |
| Genotypes/sample | 1.42 | 1.40 |

Table 2. Multiple genotypes from each specimen presented by AdvanSure assay and PANA RealTyper

| No. of types | AdvanSure assay | PANA RealTyper |
|--------------|-----------------|----------------|
| 2 | 6, 39 | 6, 39 |
| | 6, 42 | 6, other |
| | | 6, other |
| | 16, 59 | |
| | 16, 62 | 16, other |
| | | 16, 68 |
| | | 16, 68 |
| | 18, 58 | 18, 58 |
| | 33, 62 | |
| | 35, 51 | 35, 51 |
| | 42, 69 | |
| 44, 52 | | |
| 43, 59 | | |
| 52, 53 | | 52, 53 |
| | | 52, 58 |
| | 62, 66 | 66, other |
| 3 | 52, 54, 58 | |
| | | 11, 53, 82 |
| | | 16, 69, other |
| | | 33, 39, other |
| | | 52, 68, other |

Table 3. Agreement of HPV genotypes between AdvanSure assay and PANA RealTyper

| HPV genotype | AdvanSure assay/PANA RealTyper | | | | Kappa (95% CI) | Positive percent agreement (95% CI) | Negative percent agreement (95% CI) | Overall percent agreement (95% CI) |
|------------------|--------------------------------|-----|-----|-----|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | +/+ | +/- | -/+ | -/- | | | | |
| High risk | | | | | | | | |
| 16 | 4 | 0 | 1 | 55 | 0.88 (0.65-1.00) | 100.00 (51.00-100.00) | 98.21 (90.60-99.70) | 98.33 (91.10-99.70) |
| 18 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 26 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 31 | 0 | 0 | 0 | 60 | | Not available* | 100.00 (94.04-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 33 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 35 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 39 | 5 | 0 | 1 | 54 | 0.90 (0.71-1.00) | 100.00 (56.60-100.00) | 98.18 (90.40-99.70) | 98.33 (91.06-99.70) |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 60 | | Not available* | 100.00 (94.04-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 51 | 2 | 0 | 0 | 58 | | 100.00 (34.20-100.00) | 100.00 (93.84-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 52 | 5 | 0 | 1 | 54 | 0.90 (0.71-1.00) | 100.00 (56.60-100.00) | 98.18 (90.40-99.70) | 98.33 (91.06-99.70) |
| 53 | 5 | 0 | 1 | 54 | | 0.90 (0.71-1.00) | 100.00 (56.60-100.00) | 98.18 (90.40-99.70) |
| 56 | 4 | 0 | 0 | 56 | | 100.00 (51.00-100.00) | 100.00 (93.62-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 58 | 3 | 0 | 2 | 55 | 0.73 (0.37-1.00) | 100.00 (43.80-100.00) | 96.49 (88.10-99.00) | 96.67 (88.60-99.10) |
| 59 | 0 | 3 | 0 | 57 | | 0.00 (0.00-56.20) | 100.00 (93.73-100.00) | 95.00 (86.30-98.30) |
| 66 | 2 | 0 | 0 | 58 | | 100.00 (34.20-100.00) | 100.00 (93.84-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 68 | 4 | 1 | 2 | 53 | 0.70 (0.37-1.00) | 80.00 (37.60-96.40) | 96.36 (87.70-99.00) | 95.00 (86.30-98.30) |
| 69 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 70 | 2 | 0 | 0 | 58 | | 100.00 (34.20-100.00) | 100.00 (93.84-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 73 | 0 | 0 | 0 | 60 | | Not available* | 100.00 (94.04-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |
| 82 | 0 | 0 | 1 | 59 | | Not available* | 98.33 (91.10-99.70) | 98.33 (91.06-99.70) |
| Low risk | | | | | | | | |
| 6 | 2 | 0 | 1 | 57 | | 100.00 (34.20-100.00) | 98.28 (90.90-99.70) | 98.33 (91.06-99.70) |
| 11 | 1 | 0 | 0 | 59 | | 100.00 (20.70-100.00) | 100.00 (93.94-100.00) | 100.00 (94.04-100.00) |

*Positive percent agreement cannot be calculated because denominator is zero.
Abbreviation: CI, confidence interval.

Table 4. Discordant results of AdvanSure assay and PANA RealTyper

| HPV genotype | No. | Results | | PCR & Sequencing | Interpretation | |
|--------------|-----|-----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| | | AdvanSure assay | PANA RealTyper | | AdvanSure assay | PANA RealTyper |
| 6 | 1 | - | + | 6 | False negative | True positive |
| 16 | 1 | - | + | 16 | False negative | True positive |
| 39 | 1 | - | + | 39 | False negative | True positive |
| 52 | 1 | - | + | 52 | False negative | True positive |
| 53 | 1 | - | + | Invalid result | Not determined | |
| 58 | 2 | - | + | 58 | False negative | True positive |
| 59 | 3 | + | - | Not done | Not determined | |
| 68 | 1 | + | - | Not done | Not determined | |
| | 2 | - | + | 68 | False negative | True positive |
| 82 | 1 | - | + | Invalid result | Not determined | |

되었다. 본 연구에서는 AdvanSure assay와 PANA RealTyper에 대해 비교연구를 진행하여 연구실에서 사용하고 있는 검사방법의 유용성에 대하여 평가하였다.

본원에서 HPV 유전자형 검사를 위해 사용되었던 AdvanSure assay의 경우 기존 문헌을 통해 성능이 검증되어 왔다. 타 방법

들과 비교했을 시 HPV를 검출해내는 데 있어서 동등하거나 더 높은 검출능을 보이는 것으로 나타났다[10,11]. 본 연구에서 비교연구한 PANA RealTyper는 real-time PCR 방법과 melting curve 분석을 이용한 검사이다. HPV 유전자형은 고유의 형광과 Tm 값을 가지고 있어 유전자형을 확인할 수 있다. 기존 연

구에서 melting curve 분석은 GenoArray method (Hybridio Ltd., Chaozhou, China)와 비슷한 성능으로 바이러스를 검출했다[12]. AdvanSure assay와 비교한 본 연구에서는 높은 수준의 일치율을 보였다.

PANA RealTyper는 고위험군 20종과 저위험군 2종의 유전자형 감별과 동시에 저위험군 18종을 검출한다. 기존의 AdvanSure assay와 비교 시 HPV 57이 제외되고 HPV 30, 67, 74, 84, 87, 90이 추가로 검출 가능한 것이다. 단, 저위험군에서 AdvanSure assay는 6과 11 외에 다른 유전자형도 유전자형 별로 구별하여 검출할 수 있었으나 PANA RealTyper는 모두 'other type'으로 보고하는 제한점이 있다. 그러나 저위험군의 낮은 임상적 의의를 고려할 때 상기 제한점은 검사의 임상 적용에 문제되지 않을 것으로 판단할 수 있다.

검사실 업무 측면에서 PANA RealTyper는 AdvanSure assay에 비해 hands-on-time을 줄이는 효과가 있었다. AdvanSure assay의 경우 real-time PCR 후 증폭 산물을 AdvanSure Genoline station에서 교잡 반응을 하고 판독하기 때문에 검사 단계 중간에 장비를 옮겨야 했다. 반면, PANA RealTyper의 경우 real-time PCR 후 바로 melting curve 분석을 하기 때문에 DNA 추출 후 장비에 주입하면 결과까지 볼 수 있었다.

본 연구에서는 대상으로 한 검체 수가 총 60개로 각 유전자형으로 구분하면 양성인 검체 수가 적어서(0-6개) 두 검사법을 비교하기에는 한계가 있었다. 또한 모든 불일치 검체에 대해 염기순서분석을 진행하지 못하여 진양성, 진음성 여부를 일부 검체에서는 확인하지 못했다. 특히, AdvanSure assay에서만 양성이었던 검체(HPV 59 (n=3), 68 (n=1))에 대해서는 염기순서 분석을 시행하지 못해, PANA RealTyper이 위음성일 가능성을 배제할 수 없다.

결론적으로 multiplex real-time PCR 방법과 melting curve 분석을 이용한 HPV 유전자형 검사법인 PANA RealTyper를 AdvanSure assay와 비교하여 평가한 결과, 두 검사법 간에 유의한 차이는 없었으며 높은 일치도를 보여주었다. PANA RealTyper는 임상 검사실에서 HPV 유전자형을 감별진단하는데 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각한다.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the National Research

Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (No. 2017R1C1B5017422).

REFERENCES

- Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:1-17.
- Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, Bryant A, Martin-Hirsch PP, Mustafa RA, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;8:CD008587.
- You W, Li S, Du R, Zheng J, Shen A. Epidemiological study of high-risk human papillomavirus infection in subjects with abnormal cytological findings in cervical cancer screening. *Exp Ther Med* 2018;15:412-8.
- Lagheden C, Eklund C, Lamin H, Kleppe SN, Lei J, Elfström KM, et al. Nationwide comprehensive human papillomavirus (HPV) genotyping of invasive cervical cancer. *Br J Cancer* 2018;118:1377-81.
- Kaur P, Aggarwal A, Nagpal M, Oberoi L, Sharma S. Prevalence and clinical utility of human papilloma virus genotyping in patients with cervical lesions. *J Obstet Gynaecol India* 2014;64:279-83.
- Moreau F, Fetouchi R, Micalessi I, Brejeon V, Bacon N, Jannes G, et al. Detection and genotyping of human papillomavirus by real-time PCR assay. *J Clin Virol* 2013;56:244-9.
- CLSI. User protocol for evaluation of qualitative test performance; approved guideline-second edition. CLSI document EP12-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, Seme K. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update. *J Clin Virol* 2016;76 Suppl 1:S3-13.
- Poljak M and Kocjan BJ. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:1139-62.
- Kahng J, Oh EJ, Lee HN, Lee DW, Kim Y. Clinical validation of AdvanSure GenoBlot assay as primary screening and test of cure for human papillomavirus infection. *Ann Lab Med* 2014;34:127-33.
- Chung HS and Lee M. Comparison of the AdvanSure HPV GenoBlot assay with the INNO-LiPA HPV genotyping assay for human papillomavirus genotyping. *J Clin Virol* 2014;60:34-8.
- Liao Y, Zhou Y, Guo Q, Xie X, Luo E, Li J, et al. Simultaneous detection, genotyping, and quantification of human papillomaviruses by multicolor real-time PCR and melting curve analysis. *J Clin Microbiol* 2013;51:429-35.

=국문초록=

인유두종바이러스 유전자형 검사법 PANA RealTyper HPV Kit와 AdvanSure HPV GenoBlot Assay의 비교

이화여자대학교 의과대학 진단검사의학교실

김이현, 정혜선, 이미애

배경: PANA RealTyper HPV kit (PANAGENE, Korea; PANA RealTyper)는 multiplex real-time PCR과 melting curve analysis를 이용하여 human papillomavirus (HPV)의 유전자형을 검출한다. 본 연구에서는 PANA Real Typer와 AdvanSure HPV GenoBlot assay (LG Life Sciences, Korea; AdvanSure assay)를 비교하였다.

방법: 자궁경부암 검진을 받은 환자에서 채취한 검체를 60개 수집하였다. AdvanSure assay와 PANA RealTyper는 고위험군 HPV 20종을 검출할 수 있다. 저위험군 HPV의 경우 AdvanSure assay는 15종을, PANA RealTyper는 2종의 유전자형을 구별할 수 있고 18종의 유전자형을 검출할 수 있다.

결과: 총 60개 중 40개 검체에서 54개의 고위험군 유전자형이 검출되었으며 18개 검체에서 20개의 저위험군 유전자형이 검출되었다. 고위험군에서 두 방법 간 일치율은 94.4-100%였다. PANA Real Typer에서만 양성으로 검출된 9개 유전자형 중 7개(HPV 16 (n=1), 39 (n=1), 52 (n=1), 58 (n=2), 68 (n=2))은 진양성으로 판별되었다. AdvanSure assay에서만 양성으로 나온 4개 유전자형 중 3개는 HPV 59였다. 저위험군에서 AdvanSure assay에서 검출된 19개 유전자형 중 HPV 6 2개, HPV 11 1개였다. HPV 6 중 한 개는 PANA RealTyper에서만 양성이었다.

결론: PANA RealTyper는 AdvanSure assay와 동등한 검출력을 보였으며, 임상 검사실에서 HPV 유전자형 검사에 유용하게 쓰일 수 있을 것으로 생각한다. [Ann Clin Microbiol 2018;21:86-91]

교신저자 : 정혜선, 07985, 서울시 양천구 안양천로 1071
이화여자대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 02-2650-5043, Fax: 02-2650-5091
E-mail: sunny0521.chung@ewha.ac.kr